Fer-color

AA

Método colorimétrico directo para la determinación de hierro en suero o plasma

SIGNIFICACION CLINICA

El hierro se distribuye en el organismo de diferentes maneras, incluyendo hemoglobina, hierro tisular y mioglobina.
El transporte de hierro de un órgano a otro se realiza mediante una proteína transportadora llamada apotransferrina. El complejo que forma con el hierro se conoce como transferrina.
La ferritina, localizada en casi todas las células del cuerpo, constituye una reserva de hierro disponible para la formación de la hemoglobina y otras proteínas que contienen el grupo hemo. La absorción de hierro ocurre principalmente en el duodeno. Tanto la ferritina como la transferrina están presentes en las células de la mucosa intestinal y juntas regulan la absorción de hierro.
Los mayores desórdenes del metabolismo de hierro se relacionan con su deficiencia o exceso, sin embargo, se han observado alteraciones en muchas otras enfermedades, incluyendo anemia, enfermedades cardiovasculares, hepatitis crónica, enfermedades renales e infecciones.
La anemia por pérdida de hierro representa uno de los trastornos orgánicos más frecuentes, especialmente en niños, mujeres jóvenes, embarazadas y ancianos. También las úlceras gástricas o duodenales y carcinomas de estómago, constituyen causas de anemia ferropénica.
Por el contrario, el exceso de hierro se asocia con otros desórdenes, como hemosiderosis, hemocromatosis y anemia sideroblástica.

FUNDAMENTOS DEL METODO

El hierro sérico se libera de la unión con su proteína transportadora específica, la transferrina, en buffer acetato pH 4,5 y en presencia de un reductor, el ácido ascórbico. Posteriormente reacciona con el reactivo de color, piridil bis-fenil triazina sulfonato (ferrozina) dando un complejo color magenta, que se mide a 560 nm.

REACTIVOS PROVISTOS

A. Reactivo A: solución de acetato 150 mmol/l para pH 4,5, conteniendo guanidina.
B. Reactivo B: ácido ascórbico.
C. Reactivo C: solución estabilizada de ferrozina.
S. Standard: solución de iones Fe (III) equivalente a 100 ug/dl.

Concentraciones finales

Acetato	150 mmol/l, pH 4,5
Ferrozina	0,2 mmol/l
Acido ascórbico	0,03 mol/l
Guanidina	4,0 mol/l

REACTIVOS NO PROVISTOS

- Calibrador A plus de Wiener lab.
- Agua bidestilada.

INSTRUCCIONES PARA SU USO

Reactivo C: listo para usar.
Standard: listo para usar.
Reactivo de Trabajo: transferir al vial de Reactivo B la cantidad de Reactivo A indicada en el rótulo. Colocar fecha de preparación.

PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".
Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.
Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos Provistos: son estables a temperatura ambiente (< 25ºC) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja.
Reactivo de Trabajo: es estable durante 3 meses a partir de la fecha de su preparación conservado en refrigerador (2-10ºC) o 10 días a temperatura ambiente (18-25ºC).

INDICIOS DE INESTABILIDAD O DETERIORO DE LOS REACTIVOS

Variaciones en las lecturas de Blancos de Reactivos y/o Standard, indican contaminaciones ocasionales (agua, material de vidrio, etc.). Un aumento en el valor de los Blancos indicará una contaminación con hierro.

MUESTRA

Suero o plasma
a) Recolección: el paciente debe estar en ayunas y las extracciones deben practicarse siempre a la misma hora (preferentemente de mañana) ya que las fluctuaciones fisiológicas son significativas durante el día.
b) Aditivos: en caso de utilizar plasma como muestra debe usarse heparina como anticoagulante.
c) Sustancias interferentes conocidas: no se observa interferencia por hemoglobina hasta 90 mg/dl, bilirrubina hasta 15 mg/dl y heparina hasta 50 UI/ml.
Muestras lipémicas pueden conducir a resultados erróneos.
Niveles de triglicéridos de 3,72 g/l producen interferencias.
Si bien hemólisis ligeras no interfieren con este método, el International Committee for Standardization in Hematology

(ICSH) recomienda el uso de suero libre de hemólisis. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.
d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento: el suero o plasma heparinizado pueden conservarse hasta una semana en refrigerador (2-10ºC).

MATERIAL REQUERIDO (no provisto)
- Espectrofotómetro o fotocolorímetro.
- Micropipetas y pipetas para medir los volúmenes indicados.
- Tubos o cubetas espectrofotométricas.

CONDICIONES DE REACCION
- Longitud de onda: 560 nm en espectrofotómetro o 540-560 nm en fotocolorímetro con filtro verde.
- Temperatura de reacción: temperatura ambiente
- Tiempo de reacción: 5 minutos
- Volumen de muestra: 200 ul
- Volumen total de reacción: 1,4 ml

PROCEDIMIENTO
En tres tubos marcados B (Blanco de Reactivos), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Agua bidestilada	200 ul	-	-
Standard	-	200 ul	-
Muestra	-	-	200 ul
Reactivo de Trabajo	1 ml	1 ml	1 ml

Mezclar. Leer la absorbancia del tubo D (Blanco de Suero BS) en espectrofotómetro a 560/580 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (540/560 nm) llevando a cero el aparato con agua. Luego agregar:

Reactivo C	200 ul	200 ul	200 ul

Mezclar inmediatamente. Volver a leer cada tubo a los 5 minutos, llevando el aparato a cero con agua.

ESTABILIDAD DE LA MEZCLA DE REACCION FINAL
Los tubos deben ser leídos entre 5 y 60 minutos luego de completados los pasos del procedimiento.

CALCULO DE LOS RESULTADOS
Corregir las lecturas de S y D, restándoles los Blancos correspondientes:

S - B = S corregida
D - (B + BS) = D corregida
Fe (ug/dl) = D corregida x f

$$\text{donde:} \quad f = \frac{100 \text{ ug/dl}}{\text{S corregida}}$$

METODO DE CONTROL DE CALIDAD
Procesar 2 niveles de un material de control de calidad (**Standatrol S-E 2 niveles**) con concentraciones conocidas de hierro, con cada determinación.

VALORES TEORICOS
Hombres: 65 a 175 ug/dl (11,6-31,3 umol/l)
Mujeres: 50 a 170 ug/dl (9-30,4 umol/l)

VALORES DE REFERENCIA
En un grupo de 20 mujeres y 20 varones sanos, con edades oscilando entre los 18 y 51 años, se halló un rango de 55 a 175 ug/dl* con los siguientes promedios:

Hombres: 114,6 ug/dl (20,5 umol/l)
Mujeres: 103,3 ug/dl (18,5 umol/l)

*Valores de referencia extraidos de archivos de Wiener lab. Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CONVERSION DE UNIDADES AL SISTEMA SI
Hierro (ug/dl) x 0,179 = Hierro (umol/l)

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO
- Valores de Blanco aceptables: la determinación de oligoelementos requiere la prevención de posibles contaminaciones del agua y los reactivos. El Blanco de Reactivos, ejecutado de acuerdo al Manual de Instrucciones, no debe ser superior a 0,150 D.O. debiendo ser además, despreciable la contribución del agua en dicho Blanco. Para ello se recomienda el uso de agua de calidad comprobada (conductividad menor a 0,02 uOhms).
- Limpieza del material: todo el material de laboratorio empleado debe estar libre de hierro, para lo cual debe ser sumergido durante 6 horas en HCl p.a. 10-15%, eliminando la acidez con numerosos lavados con agua libre de hierro. Secar el material preferentemente a no más de 80ºC en cestillas de acero inoxidable o revestidos con plástico. Todo el material debe ser empleado exclusivamente para la determinación de hierro.

PERFORMANCE
a) Reproducibilidad: procesando replicados de las mismas muestras en un mismo día, se obtuvieron los siguientes datos:

Nivel	D.S.	C.V.
146,5 ug/dl	± 1,93 ug/dl	1,32 %
324,6 ug/dl	± 1,76 ug/dl	0,54 %

Procesando la misma muestra en días diferentes, se obtuvieron los siguientes resultados:

Nivel	D.S.	C.V.
142,8 ug/dl	± 2,50 ug/dl	1,75 %
314,0 ug/dl	± 3,93 ug/dl	1,25 %

b) Recuperación: agregando cantidades conocidas de Fe (II) a alícuotas de un mismo suero, se recuperó entre 90 y 103%.
c) Linealidad: la reacción es lineal hasta 1000 ug/dl.
d) Límite de detección: 6,05 ug/dl.

PARAMETROS PARA ANALIZADORES AUTOMATICOS
Para las instrucciones de programación debe consultarse el

Manual del Usuario del Analizador en uso. Para la calibración debe emplearse **Calibrador A plus** de Wiener lab., de acuerdo a los requerimientos del analizador.

PRESENTACION

- 5 x 20 ml (Cód. 1492003).

BIBLIOGRAFIA

- Dixon, K. - Ann. Clin. Biochem. 10/5:127 (1973).
- I.C.S.H. - Am. J. Clin. Path. 56/4:543 (1971).
- Zak, B.; Baginski, E.S.; Epstein, E. y Wiener, L.M. - Clin. Toxicol. 4/4:621 (1971).
- Rojkín, M.L.; Olguín de Mariani, M.C.; Drappo, G.A. y Albarracín, A. - III Congreso Argentino de Bioquímica - Buenos Aires (1975).
- Young, D.S. - "Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests", AACC Press, 4th ed., 2001.

SIMBOLOS

Los siguientes símbolos se utilizan en todos los kits de reactivos para diagnóstico de Wiener lab.

CE Este producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico "in vitro"

EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea

IVD Uso diagnóstico "in vitro"

Σ Contenido suficiente para <n> ensayos

Fecha de caducidad

Límite de temperatura (conservar a)

No congelar

Riesgo biológico

Volumen después de la reconstitución

Cont. Contenido

LOT Número de lote

Elaborado por:

Xn Nocivo

Corrosivo / Caústico

Xi Irritante

Consultar instrucciones de uso

Calibr. Calibrador

CONTROL Control

CONTROL + Control Positivo

CONTROL − Control Negativo

REF Número de catálogo

Wiener Laboratorios S.A.I.C.
Riobamba 2944
2000 - Rosario - Argentina
http://www.wiener-lab.com.ar
Dir. Téc.: Viviana E. Cétola
Bioquímica
Producto Autorizado A.N.M.A.T.
Cert. Nº: 3193/99

Wiener lab.
2000 Rosario - Argentina